

Rec'd PCT/PTO 17 DEC 2004

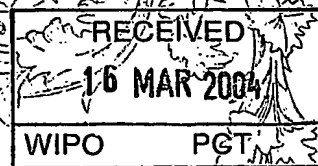
PCT/KR 2004/000410

RO/KR 27.02.2004

10/518419



대한민국 특허청
KOREAN INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

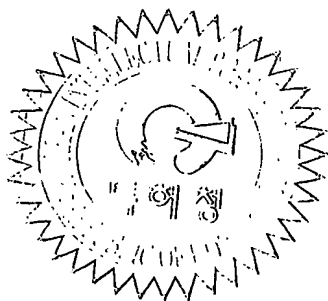
This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2003-0031616
Application Number

출원년월일 : 2003년 05월 19일
Date of Application MAY 19, 2003

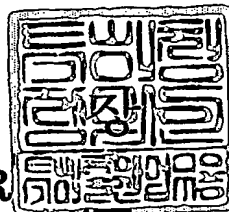
출원인 : 조건식
Applicant(s) CHO, KUN SIK

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



2004 년 02 월 27 일

특 허 청
COMMISSIONER



BEST AVAILABLE COPY

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2003.05.19
【발명의 명칭】	혈압 강하 기능을 가지는 키토산 함유 소금의 제조방법
【발명의 영문명칭】	Method for Producing a Chitosan Containing Salt Having a Function of Lowering Blood Pressure
【출원인】	
【성명】	조건식
【출원인코드】	4-1998-026613-5
【대리인】	
【성명】	이처영
【대리인코드】	9-2003-000118-9
【포괄위임등록번호】	2003-027447-1
【발명자】	
【성명】	조건식
【출원인코드】	4-1998-026613-5
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김계엽
【성명의 영문표기】	KIM,GYE YEOP
【주민등록번호】	700609-1551115
【우편번호】	500-160
【주소】	광주광역시 북구 일곡동 일로아파트 102동 1004호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	함경식
【성명의 영문표기】	HAM,KYUNG SIK
【주민등록번호】	580314-1162211
【우편번호】	502-156
【주소】	광주광역시 서구 풍암동 1096번지 현대상환아파트 103동 802호
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 박현진
 【성명의 영문표기】 PARK, HYUN JIN
 【주민등록번호】 580927-1067930
 【우편번호】 157-220
 【주소】 서울특별시 강서구 방화동 493-1
 【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 김인철
 【성명의 영문표기】 KIM, IN CHEOL
 【주민등록번호】 620401-1140215
 【우편번호】 503-330
 【주소】 광주광역시 남구 진월동 아남아파트 105동 1105호
 【국적】 KR

【심사청구】

청구

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의
 한 출원심사 를 청구합니다. 대리인
 이처영 (인)

【수수료】

【기본출원료】	20 면	29,000 원
【가산출원료】	0 면	0 원
【우선권주장료】	0 건	0 원
【심사청구료】	7 항	333,000 원
【합계】		362,000 원
【감면사유】	개인 (70%감면)	
【감면후 수수료】	108,600 원	
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통	

【요약서】**【요약】**

본 발명은 혈압강하 기능을 가지는 키토산 함유 소금의 제조방법에 관한 것으로, 소금에 산용해성 키토산을 유기산에 용해시키거나 수용성 키토산 유도체를 물에 용해시킨 키토산용액을 소금에 분무하여 키토산 또는 키토산 유도체를 소금입자에 결합시킨 후, 건조시켜서 미립자화한 키토산 함유 소금의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명은 분무 또는 혼합에 의해서 키토산 또는 키토산 유도체를 소금입자에 결합시킴으로 재결정 공정이 없이 키토산 함유 소금을 제조할 수 있어, 제조비용을 획기적으로 절감하는 효과가 있다.

【대표도】

도 6

【색인어】

키토산, 소금, 혈압강하

【명세서】

【발명의 명칭】

혈압 강하 기능을 가지는 키토산 함유 소금의 제조방법{Method for Producing a Chitosan Containing Salt Having a Function of Lowering Blood Pressure}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 키토산 함유 소금의 ACE 저해 활성에 관한 비교 그래프이다.

도 2는 키토산 분자량에 따른 키토산 함유 소금의 ACE 저해 활성에 관한 비교 그래프이다.

도 3은 키토산 함유 소금 투여에 따른 쥐의 혈압 측정 비교 그래프이다.

도 4는 키토산 함유 소금 투여에 따른 쥐 사육시 하루 2시간씩 운동하였을 때의 소금과 혈압관계를 나타낸 그래프이다.

도 5는 고혈압 유발쥐에 있어서 키토산 함유 소금과 혈압을 측정한 비교 그래프이다.

도 6은 종래기술과 본 발명에 따른 키토산 함유 소금 제조공정의 비교도이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<7> 본 발명은 키토산 또는 키토산 유도체를 소금입자에 결합시키는 것을 특징으로 하는 혈압강하 기능을 가지는 키토산 함유 소금의 제조방법에 관한 것이다.

- <8> 고혈압 등 심혈관계 질환이나 당뇨, 신부전증 등 난치성 성인병 환자에게는 소금을 제한하거나 저염식을 권장하고 있다. 현재, 고혈압 환자에게 먹일 수 있는 소금은 염화칼륨(KCl)을 첨가하여 염화나트륨(NaCl)량을 줄인 소금이 있을 뿐이며, 기능성 소금이라해도 마늘소금, 녹차소금 정도이며 이들의 임상결과는 아직까지 밝혀진 바 없다.
- <9> 고혈압은 주로 레닌-안지오텐신계에 의한 생리화학적 기전으로 설명되고 있으며, 고혈압의 직접적인 억제를 위하여 안지오텐신 전환효소(ACE)의 활성을 억제 할 수 있는 물질에 관심이 집중되고 있다. ACE는 디펩티드(dipeptide)를 생성하는 것 외에는 판크레아틱 카복시펩티다제 에이(pancreatic carboxypeptidase A)와 유사한 효소 기질 반응기작을 나타내는 것으로 추정되고 있어, 이를 토대로 캡토프릴(captopril) 또는 에나라프릴(enalapril)과 같은 화학 합성 ACE저해제가 고혈압 치료제로서 이용되고 있으나, 이와 같은 화학 합성품은 안전성이나 부작용 등의 문제점이 많아 각종 천연물로부터 펩티드(peptide)를 위주로 하는 ACE 저해물질의 특성에 대한 이해와 탐색이 계속되고 있다.
- <10> ACE 저해물질이 식품에 존재한다면 이러한 식품을 꾸준히 섭취할 경우 자연스럽게 고혈압의 예방이나 완화에 도움이 될 것이다. 이에 따라 ACE 저해물질로 알려진, 생고분자 물질 중의 하나인 키토산은 주로 게, 새우, 갑각류의 껍질에 존재하는 동물성 다당류의 일종인 키틴(chitin)을 탈 아세틸화시켜 제조하는 물질로서 디-글루코사민(D-glucosamine)이 β -1,4 결합으로 연결된 다당류로서 원료에 따라 갑각류에서의 α -키토산, 연체류에서의 β -키토산, 균체로부터의 γ -키토산 등이 있다.
- <11> 키토산을 엄밀히 말하자면 키틴 유도체라 할 수 있는데, 산용해성 키토산은 일반적으로 키토산이라 하며 수용성 키토산은 화학적 수식에 의해 카르복실 메틸기를 부여한 CM-키토산(carboxymethyl-chitosan), S-키토산(oligosaccharide-chitosan), SCM-키토산(N-sulfated

derivative of N-deacetylated CM chitin), HP-키토산(hydroxyl propyl-chitosan) 등이 있다. 또한, 분자량에 따라 단당을 글루코사민, 2당~9당을 올리고키토산, 10당 이상을 일반적으로 키토산으로 명명하고 있다.

- 12> 현재 고혈압, 당뇨 등에 과다한 염분 섭취를 피하도록 염화칼륨(50%)과 염화나트륨(50%)을 혼합한 저염소금들이 등장하고 있지만, 이러한 제품들은 고혈압에 대한 효과가 밝혀진 바가 없다.
- 13> 한편, 식염에 키토산을 첨가한 액상 식염 조미료에 대한 기술이 알려져 있다(KR 95/5196A). 그러나, 상기 특허에는 혈압 강하 효능에 관해서 전혀 언급되어 있지 않을 뿐만 아니라, 일반적으로 키토산의 등전점이 pH 6.5로써 알칼리수에서는 석출되어, 용해가 쉽지 않으며, 고분자 키토산은 식초산에서도 점성이 높아 겔(gel) 형태를 이루기 때문에 조미액에 키토산 1~3%를 혼합하는 것은 용이하지 않다는 문제점이 있다.
- 14> 또한, 소금용액에, 유기산에 용해시킨 키토산을 혼합 교반하여 증발 건조시킨 후, 결정화하는 단계를 거치는 키토산 소금의 제조방법이 알려져 있다(KR 01/00706A; KR 01/103538A). 그러나 상기 KR 01/103538A 특허는 키토산 소금의 혈압 강하 효능에 관한 언급이 없으며, 상기 KR 01/00706A 특허는 키토산 소금의 혈압 강하 효능에 관해서는 언급되어 있으나, 재결정 단계를 수반함에 따라 제조공정이 복잡하고 대량생산 시, 비용이 많이 드는 문제점이 있다.

- <20> 본 발명은 또한 키토산 함유소금의 키토산 또는 키토산 유도체의 함량이 1.5% 내지 5%인 것을 특징으로 할 수 있다.
- <21> 본 발명의 바람직한 구현예에 의하면, 국내산 천일염을 가공하여 저분자 키토산을 유기산(젖산, 초산, 아스코르빈산) 수용액에 혼합 용해시키거나, 키토산 유도체를 물에 용해시켜서 만든 키토산 용액을 이용한다.
- <22> 가공소금에 상기 키토산 용액을 혼합 건조하여 분무 또는 혼합 형식으로 소금입자와 결합시켜서 키토산 소금을 제조한다. 제조시 사용하는 키토산은 α -키토산, β -키토산 또는 γ -키토산이 사용가능하나, 풍부하게 생산되고 값이 저렴한 α -키토산이 적당하다.
- <23> 키토산의 분자량도 제한을 둘 필요는 없으나, 바람직하게는 소금의 염소이온과 결합력이 좋은 500~500,000 분자량(M.W.)이 좋고, 더욱 바람직하게는 10,000~100,000 분자량 범위가 소금의 특징을 저하시키는 일 없이 부드러우며 뒷맛이 좋다. 키토산 함량은 0.05~5%가 바람직하며, 더욱 바람직하게는 1.5~5%가 좋다. 함량이 1.5%이하일 경우에는 혈압강하 기능이 별로 없으며, 5%이상일 경우에는 키토산의 아린 맛이 남아 있어 맛을 떨어뜨린다. 키토산의 수용성 상태는 문제가 되지 않으며 수용성 키토산이나 산 수용성 키토산 모두 사용해도 좋다.
- <24> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 키토산 함유 소금의 제조방법과 혈압강하 효능에 관한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

<5> 실시예 1: 키토산 함유 소금의 제조방법

<6> 키토산 분자량 50,000 (탈아세틸도 : 90%)의 저분자 키토산을 젖산 5% 수용액에 혼합 용해시켜 10wt% 키토산 용액을 수득하였다. 국내산 천일염을 15 mesh로 가공한 소금 10kg에 10wt% 키토산 용액을 1ℓ, 2ℓ, 3ℓ 씩을 분무하여 소금입자에 코팅시키거나 소금입자와 결합시켰다. 코팅시키거나 결합시킨 소금입자를 건조하여 1%, 2%, 3% 키토산 함유 소금을 제조하였다(도 1 참조).

<27> 상기와 같은 방법으로 분자량이 20,000, 40,000 및 100,000 인 키토산을 이용하여 2% 키토산 함유 소금을 제조하였다(도 2 참조).

<28> 실시예 2: 키토산 함유 소금의 ACE 저해 효과

<29> 실시예 1에서 제조된 키토산 함유 소금의 ACE저해 효과는 증류수에 녹인 2% 키토산 소금 100 μ ℓ를 반응용액 250 μ ℓ에 첨가하고, 37℃에서 5분간 방치 한 후, 계속해서 ACE 50 μ ℓ를 넣고 30분간 반응시킨 다음, 1N HCl 250 μ ℓ를 첨가하여 반응을 정지시킨다. 여기에 에틸 아세테이트 (ethyl acetate) 1.5ml를 가하여 15초간 혼합하여 원심분리 한 후, 상등액 1ml를 취하여 스피드 백(speed back)에서 에틸 아세테이트를 제거하면서 건조시킨 다음, 증류수 1ml에 용해시켜 228nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 따라 ACE 저해활성을 계산하였다.

<30>
$$\text{ACE 저해 활성(\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

<31> A: 시료 첨가구의 흡광도, B: 시료 무첨가구의 흡광도

<32> 상기 실험 결과, 3량체 키토산 올리고당은 천연물로서 아주 우수한 ACE저해 능력이 있다고 하여 이를 바탕으로 하여 소금과 키토산으로 제조된 키토산 함유 소금을 사용하여 ACE의 저

해정도를 실험한 결과는 도 1과 같았다. 대조구로 사용된 화학합성 저해제인 캡토프릴(captopril)이 57%로 가장 높았으며, 키토산 함유 소금 중에서는 3% 키토산이 첨가되어진 키토산 함유 소금이 39.91%로 ACE저해 효과가 가장 높았으며 일반소금은 ACE에 대한 저해효과가 거의 없었다. 일반적으로 소금은 ACE 활성을 상승시키는 작용을 하는데 비해, 키토산 함유 소금의 경우 ACE를 저해하는 효과가 매우 뛰어나다는 것을 확인할 수 있었다.

<33> 또한, 키토산 함유량을 2%로 고정시키고 분자량을 20,000, 40,000 및 100,000 으로 변화시켜 ACE저해 정도를 실험한 결과는 도 2와 같았다. 20,000 일 때 27%로 가장 높게 나타났고, 분자량이 증가할수록 ACE 저해 효과는 약간 감소하는 경향을 나타냈다(도 2 참조).

<34> 실시예 3: 키토산 소금투여에 따른 쥐의 혈압 측정

<35> 16주 된 일반 쥐를 무염식 콘트롤군을 비교시험구로 하고, 일반소금군과 3% 키토산 소금군으로 나누어 각각 6마리씩 5주간 사육하여 일주일 간격으로 꼬리부분의 수축기혈압을 측정하였다. 혈압 측정장비로는 RTBP2000 싱글채널 시스템(Single-channel System, World Precision Instruments)를 사용하였으며 혈액 중의 나트륨과 염소 콜레스테롤을 측정하기 위해서 UV-스펙트로포토미터(UV-Spectrophotometer, Hitachi 7060)을 사용하였다. 실험 쥐의 사료 배합비(g/kg)는 옥수수 544.9g, 콩기름 20g, 염화코린 0.1g, 비타민 혼합물 20g, 카제인 240g, 설탕 145g, 소금 30g으로 하였다.

<36> 상기와 같이, 건강한 쥐를 상대로 혈압측정을 한 결과는 도 3과 같다. 즉, 일반 소금을 3% 먹인 쥐에서는 개시 전보다 7 mmHg정도 혈압이 상승하였으나, 키토산 소금을 먹인 쥐에 있어서는 3 mmHg정도 혈압이 낮아지는 것을 볼 수 있었다. 이와 같은 결과는 혈액 속의 염소이온

농도가 낮아짐에 따라 오는 현상이라 할 것이며, 이것은 과잉 섭취된 소금의 염소이온을 체외로 배설하는데 키토산이 작용한 것으로 볼 수 있다. 또한, 혈액 속의 Na와 Cl 이온 농도를 측정하였는데, 사육 1개월 후, 채혈하여 분석한 결과, 무염식 비교구는 개시전과 비교하여 염소 농도와 콜레스테롤, 중성지질 등이 낮아졌지만 일반 소금을 3% 섭취한 쥐에서는 나트륨, 염소 농도가 높아졌다. 한편 키토산 함유 소금을 3% 섭취한 쥐는 염소 농도가 상대적으로 낮아진 것을 알 수 있었다. 또한 콜레스테롤 역시 함께 낮아지는 것을 관측할 수 있었다.

<37> 【표 1】

구분	개시전	1개월 후		
	대조구	대조구 (소금 : 0%)	키토산 함유 소금 (3%)	일반 소금 (3%)
Na(mM)	141.8	141.8	148.6	149.9
Cl(mM)	99.5	96.2	97.7	102.8
TC	112.3	92.6	105.5	113.8
TG	27.15	24.1	32.3	28.5

<38> 도 4는 쥐 사육 시 하루 2시간씩 운동하였을 때의 소금과 혈압관계의 그래프이다. 키토산 소금 3% 식이주는 4 mmHg정도 혈압이 떨어지지만, 일반 소금3% 식이쥐에서는 6 mmHg정도 혈압이 상승하였다.

<39> 실시예 4: 고혈압 유발쥐를 이용한 키토산 함유 소금의 혈압강하 효과 실험

<40> 고혈압 유발쥐를 대상으로 실시예 3과 같은 실험을 수행하였으며 그 결과는 도 5와 같다. 무염식의 경우 꾸준히 혈압이 낮아진 것이 건강한 쥐에서와 같은 결과로 볼 수 있었으며, 한편 고염식 처리군에서는 건강한 쥐의 실험결과와 같이 서서히 증가하여 한 달 후에는 평균

5포인트가 상승하여 위험수위까지 도달하였다. 하지만 키토산 함유 소금군에서는 놀라울 정도로 혈압이 강하되었다.

- 41> 또한 혈액 내 Cl 이온을 측정한 결과, 일반소금 3% 투여군이 102.8 mM 인데 비해, 키토산 함유 소금 3% 투여군에서는 97.7 mM로 5.1 mM이 적게 측정되었다. 이 결과로부터 Cl 이온이 혈압을 상승시키는 주요 물질임을 추정할 수 있다.

<42> 실시예 5: 본 발명에 따른 키토산 함유 소금 제조공정의 경제성

- <43> 종래기술에 의한 제조공정은 먼저, 키토산 젖산 수용액과 천일염을 혼합하여 혼합용액을 만든다음, 이 혼합용액을 증발건조 시킨 후, 분쇄하여 선별하는 과정을 거쳐 포장을 하게 된다. 이에 비해 본 발명은 키토산 젖산 수용액을 과립천일염에 분무하여 코팅 또는 결합시킨 후, 선별하여 포장을 하게 된다. 따라서, 본 발명에 따른 키토산 함유 소금 제조공정은 혼합용액 제조용 탱크시설이 필요 없고, 재결정 공정과 분쇄공정의 생략이 가능하다(도 6 참조).

- <44> 대량생산시, 종래기술(KR 01/00706A)과 본 발명과의 에너지 비용을 비교하면 표2와 같다

<45> 【표 2】

300kg 키토산 함유 소금 제조시 에너지 비용

구분	종래기술	본 발명
제조 원료	키토산 젖산 수용액1000 ℓ (키토산3%, 젖산1.5%)+천일염 270kg	키토산 젖산 수용액 100 ℓ (키토산10%, 젖산5%)+과립천일염 270kg
증발시킬 물의 양	955 ℓ	86.5 ℓ
소요 열량	955 ℓ ×97.5(물의 0℃ 엔탈피)=570,612.5kcal	86.5 ℓ ×97.5(물의 0℃ 엔탈피)=51,683.75kcal
소요 전기에너지	570,612kcal ÷860kcal/kw=663kw	51,683kcal ÷860kcal/kw=60kw
건조 비용	663kw ×50원/kw=33,150원	60kw ×50원/kw=3,000원

16> 표2에 나타난 바와 같이, 종래기술(KR 01/00706A)에 의해 키토산 함유 소금 300kg을 제조할 때 소요되는 에너지 비용은 약 33,150원이었다.

47> 한편, 본 발명에 의한 제조방법에 따라, 키토산 10%, 젖산 5%로 키토산 젖산 수용액 100 l를 만들고, 이를 과립천일염 270kg에 분무하여 코팅 또는 결합시킨 다음, 건조 및 선별하는 과정을 거치는 경우, 증발시켜야 할 물의 양은 86.5 l 이고, 소요열량은 86.5×97.5 (물의 0℃ 엔탈피) = 51,683.75 kcal 이므로, 에너지 비용으로 환산하면, $51,683 \text{ kcal} \div 860 \text{ kcal/kw} = 60 \text{ kw}$ 가 된다. 결국, 같은 300kg 키토산 함유 소금 제조 시, 에너지 비용은 $60 \text{ kw} \times 50 \text{ 원/kw} = 3,000 \text{ 원}$ 으로 종래 기술에 비해 11배 이상 절감되었다.

【발명의 효과】

<48> 이상 설명한 바와 같이 본 발명의 키토산 함유 소금의 제조방법은 이전의 제조방법보다 단순하면서 산업적 대량생산이 용이하고, 균일한 품질로 생산할 수 있으며 제조원가를 획기적으로 줄일 수 있는 효과가 있다.

1020 516

출력 일자: 2004/3/8

【특허청구범위】**【청구항 1】**

다음의 단계를 포함하는 혈압강하 기능을 가지는 키토산 함유 소금의 제조방법:

- (a) 산용해성 키토산을 유기산에 용해시키거나 수용성 키토산 유도체를 물에 용해시키는 단계;
- (b) 상기 키토산용액을 소금에 분무하여 키토산을 소금입자에 결합시키는 단계; 및
- (c) 상기 키토산이 결합된 소금 입자를 건조시키는 단계.

【청구항 2】

제1항에 있어서, (a) 단계의 키토산은 α -키토산 또는 β -키토산인 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 3】

제1항에 있어서, (a) 단계의 키토산 또는 키토산 유도체의 분자량이 10,000 내지 100,000인 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 4】

제1항에 있어서, (a) 단계의 유기산은 젖산, 초산 또는 아스코르빈산인 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 5】

제1항에 있어서, (b)단계의 소금은 천일염, 재제염 또는 암염인 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 6】

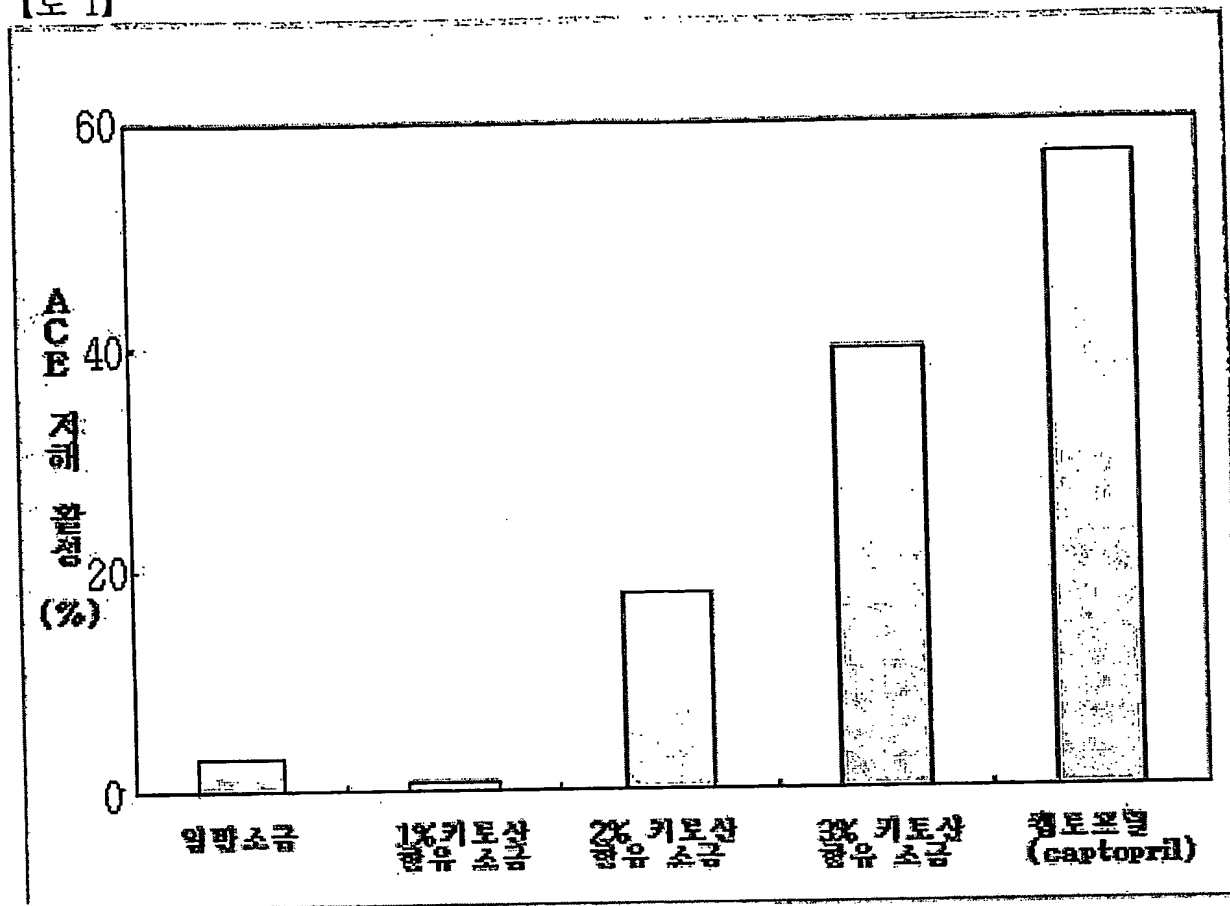
제1항에 있어서, 소금은 10 내지 50 메쉬의 사이즈인 것을 특징으로 하는 방법.

【청구항 7】

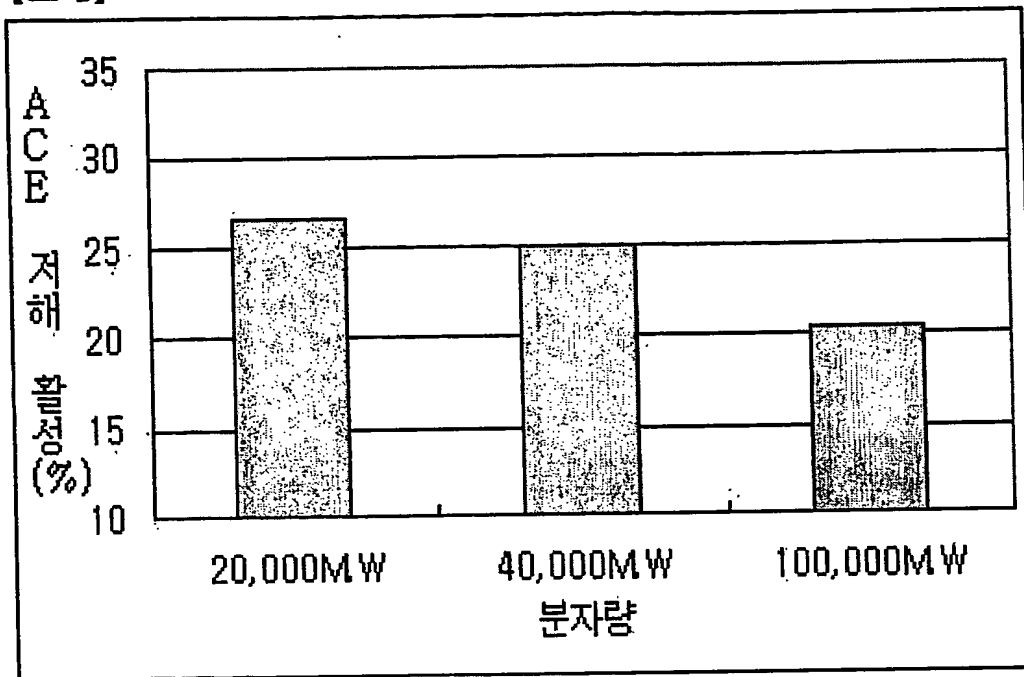
제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 키토산 함유 소금의 키토산 또는 키토산 유도체 함량이 1.5% 내지 5%인 것을 특징으로 하는 방법.

【도면】

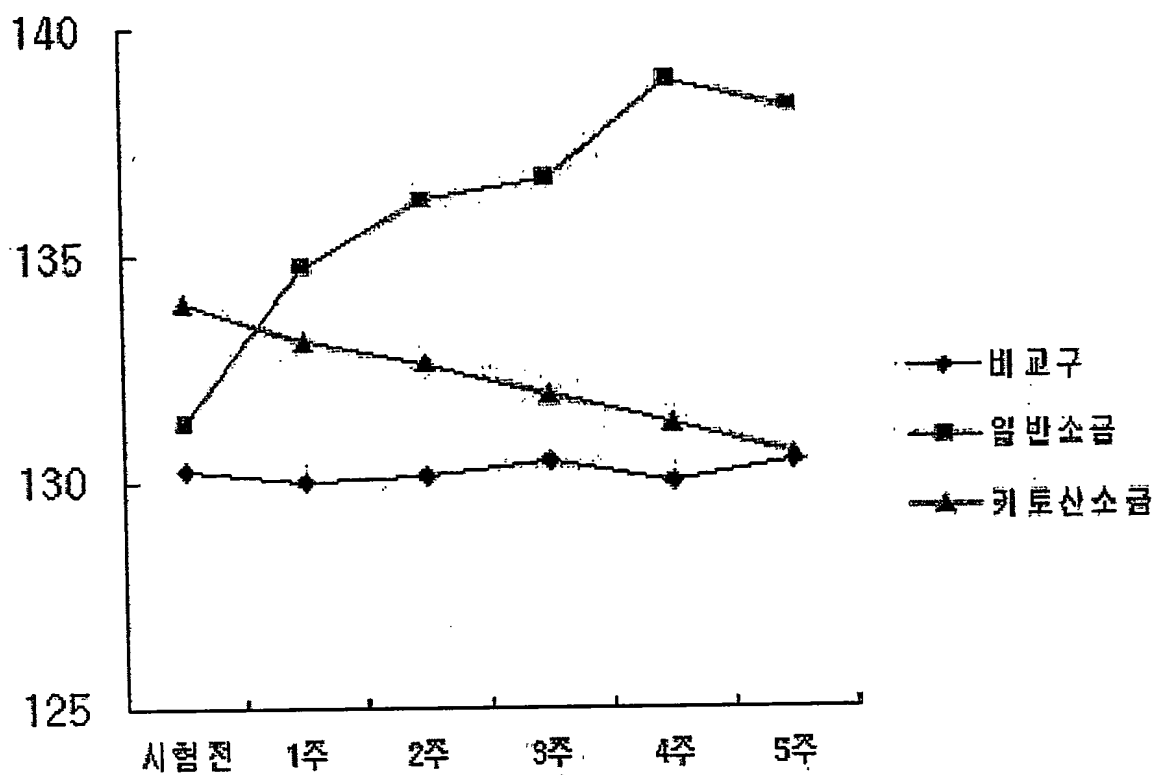
【도 1】



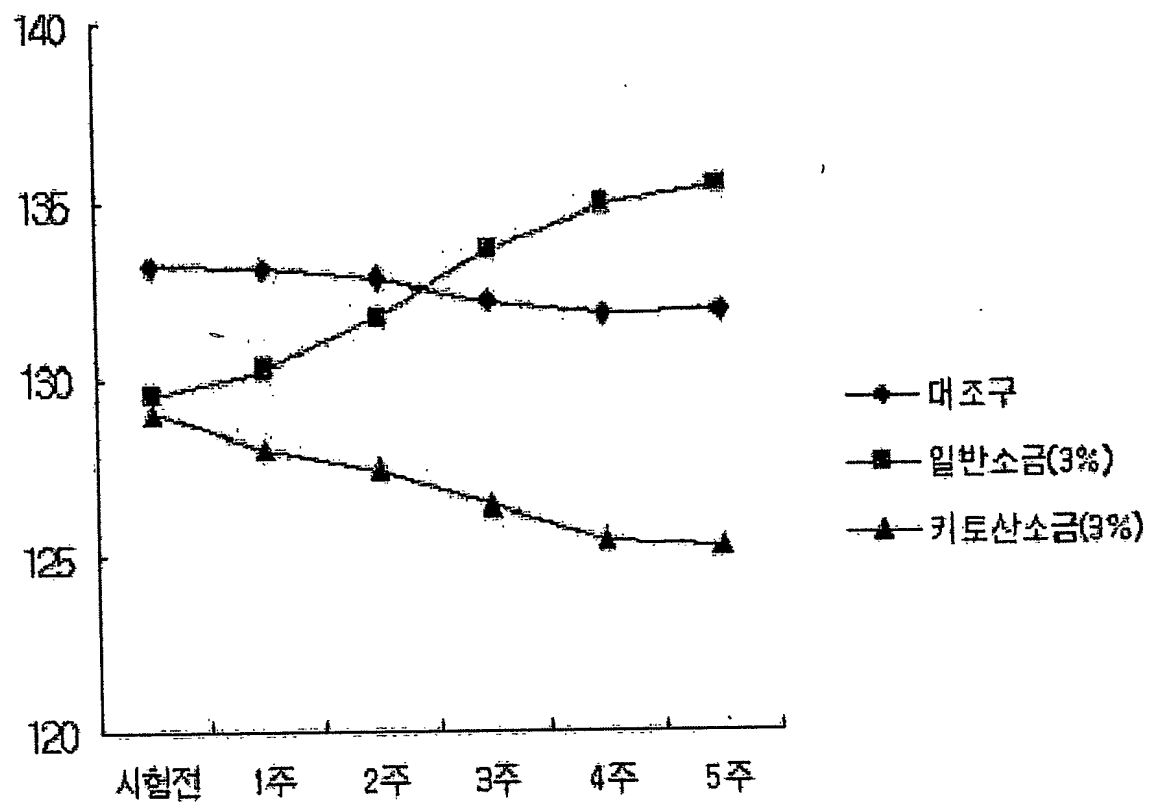
【도 2】



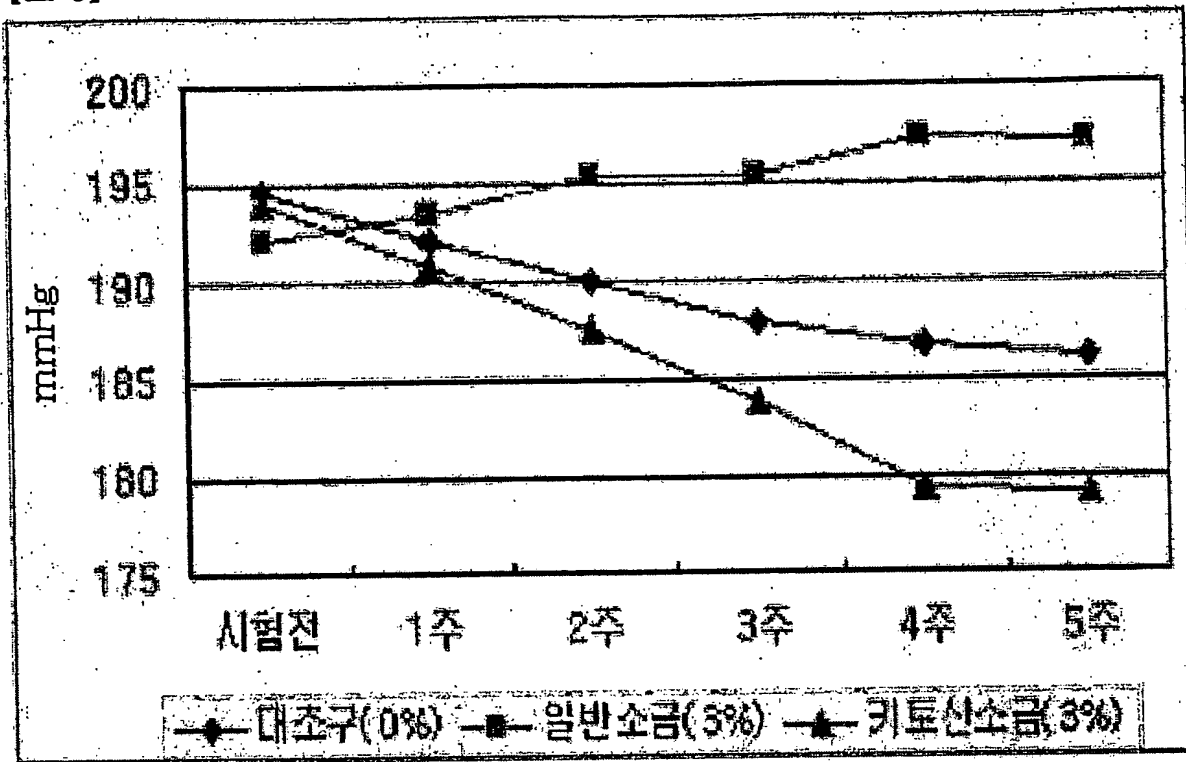
【도 3】



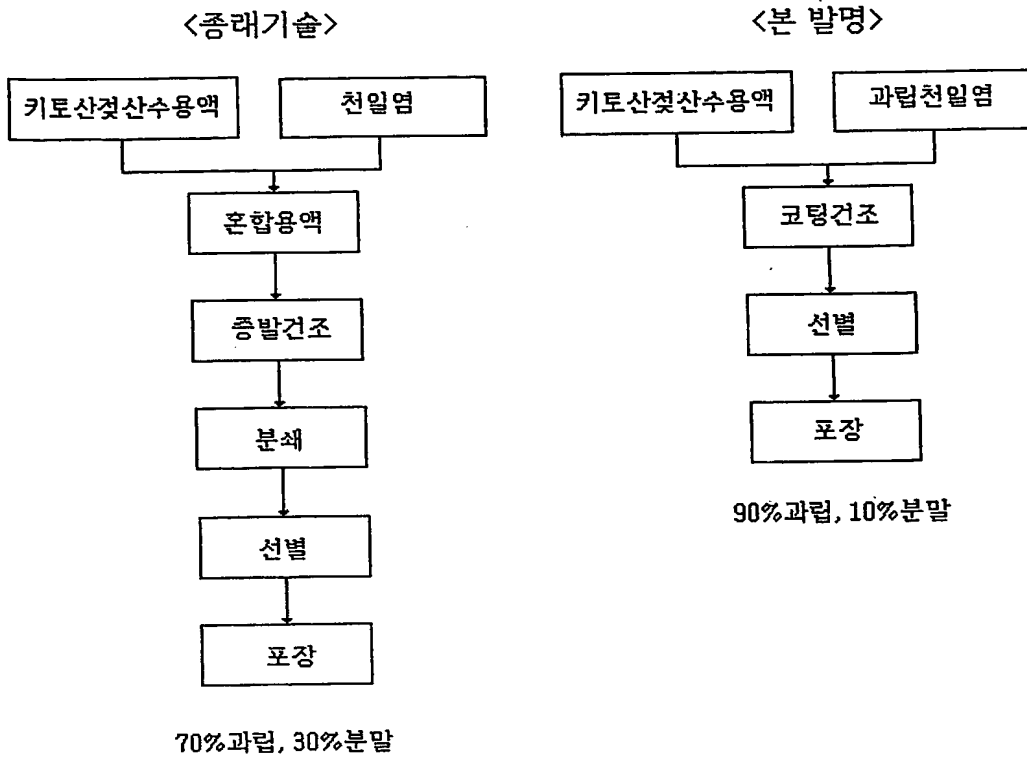
【도 4】



【도 5】



【도 6】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.